

# SPR 技术对奶粉中维生素 B<sub>12</sub> 检测方法的建立

孙明君<sup>1,2\*</sup>, 陈雍硕<sup>3</sup>, 郑小龙<sup>1</sup>, 陈 启<sup>4</sup>

(1. 山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心食品农产品检测中心, 青岛 266002; 2. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266002; 3. GE 医疗集团, 上海 200000; 4. 浙江省疾病预防控制中心理化分析中心, 杭州 310027)

**摘 要:** **目的** 利用表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)技术, 建立快速定量测定牛奶中维生素 B<sub>12</sub> 的方法。**方法** 将钴胺素共价偶联到表面等离子共振芯片 CM5 表面, 并对竞争结合的维生素 B<sub>12</sub> 结合蛋白的结合浓度及芯片的再生条件进行优化, 检测芯片的稳定性。在无抗生素牛奶中添加系列质量浓度的维生素 B<sub>12</sub>, 利用免疫竞争抑制原理构建标准曲线, 并对市售 10 个奶粉样品进行检测。**结果** 制备的芯片稳定, 50 个循环相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)小于 10%。日间批内同一样品差异为 0.54%, 该方法的检测限为 0.006 µg/100 g, 回收率为 92.1%~104.1%。测得的 10 个牛奶产品中维生素 B<sub>12</sub> 含量与对应商品标签值全部在标准规定的范围内。**结论** 所建立的方法可以在 6 h 内完成样品的前处理和检测, 是一种简便、快捷的定量检测方法。

**关键词:** 表面等离子共振; 生物芯片; 维生素 B<sub>12</sub>; 微生物法

## Method establishment of testing vitamin B<sub>12</sub> in milk powder based on surface plasmon resonance

SUN Ming-Jun<sup>1,2\*</sup>, CHEN Yong-Shuo<sup>3</sup>, ZHENG Xiao-Long<sup>1</sup>, CHEN Qi<sup>4</sup>

(1. Food and Agricultural Products Testing Agency, Technical center of Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China; 2. Ocean University of China College of Food Science and Engineering, Qingdao 266002, China; 3. GE Healthcare, Shanghai 200000, China; 4. Physicochemical Analysis Center of Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310027, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method of fast-testing vitamin B<sub>12</sub> in milk by using the technique of surface plasmon resonance (SPR). **Methods** Vitamin B<sub>12</sub> was covalently coupled to laboratory prepared CM5 chip to obtain vitamin chip, the optimal antibody working concentration and chip regeneration conditions were investigated. Meanwhile, the stability of vitamin chip was measured. A series of different concentrations of vitamin B<sub>12</sub> was added to blank milk samples to construct a standard curve for vitamin B<sub>12</sub> quantification according to the principle of competitive immune inhibition assay. Ten commercial milk samples were determined by the developed method. **Results** Vitamin chip displayed a good stability, and the relative standard deviation (RSD) for 50 cycles was less than 10%. The limit of detection (LOD) of vitamin B<sub>12</sub> was 0.006 µg/100 g, and recoveries were 92.1%~104.1%. Vitamin B<sub>12</sub> content below the required threshold level was not observed in 10 milk samples. **Conclusion** Less than 6 h was consumed for the determination of vitamin B<sub>12</sub> by the developed method, this method could offer a simple and efficient approach for vitamin B<sub>12</sub> quantification.

**KEY WORDS:** surface plasmon resonance; biochip; vitamin B<sub>12</sub>; microbiological method

\*通讯作者: 孙明君, 助理工程师, 主要研究方向为进出口食品农产品质量与安全检验。E-mail: sun\_mingjun@hotmail.com

\*Corresponding author: SUN Ming-Jun, Assistant Engineer, Technical Center of Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.70, Qutangxia Road, Shinan District, Qingdao 266002, China. Email:sun\_mingjun@hotmail.com

## 1 引言

维生素 B<sub>12</sub> 是维持人体正常机能与代谢活动不可或缺的水溶性 B 族维生素, 人体无法自行制造合成, 必须额外补充。奶粉作为婴幼儿主要食品, 其中维生素 B<sub>12</sub> 的含量对婴儿健康的影响尤为重要。虽然国家相关标准明确规定了奶粉中维生素 B<sub>12</sub> 的添加量<sup>[1]</sup>, 但仍有不少市售奶粉存在维生素 B<sub>12</sub> 的不合理添加。世界上许多国家和组织对奶粉中维生素 B<sub>12</sub> 含量的检测建立了限制标准, 例如 Vitamin B<sub>12</sub>-AOAC 2011.10-Determination of Vitamin B<sub>12</sub> in Infant Formula and Adult Nutritions by HPLC; 我国采用 GB 5413.14-2010 食品安全国家标准婴幼儿食品和乳品中维生素 B<sub>12</sub> 的测定来检测奶粉中维生素 B<sub>12</sub>, GB 10765-2010、GB 10767-2010 中分别规定了婴儿配方食品、较大婴儿和幼儿配方食品中维生素 B<sub>12</sub> 的添加量。目前, 奶粉中维生素 B<sub>12</sub> 主要检测方法有微生物检测法, 理化检测法如 HPLC 和免疫检测法<sup>[2]</sup>, 这些方法样品前处理较为复杂, 检测时间较长。

表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)是在金属和电介质界面处入射光场在适当的条件(能量与动量匹配)下引发金属表面的自由电子相干振荡的一种物理现象<sup>[3]</sup>。Kretschmann 等<sup>[4]</sup>利用衰减全反射棱镜耦合方法, 实现光激发表面等离子波(surface plasma wave, SPW), 为 SPR 传感器的商用化奠定了基础。Caelen 等<sup>[5]</sup>应用基于 Biacore Q 平台的 SPR 传感器来测定维生素 B<sub>2</sub>(核黄素)。用羧甲基葡聚糖来固定核黄素。已知浓度核黄素连接蛋白与样品混合, 用 SPR 传感器测定未结合蛋白量。奶粉基质的产品核黄素的检测限为 70 ng/mL。Haughey 等<sup>[6]</sup>应用商品化的 Biacore QSPR 传感器测定维生素 B<sub>5</sub>(泛酸)用羧甲基葡聚糖来固定泛酸。该方法可以检测各种食物提取物中的维生素 B<sub>5</sub>(例如, 婴儿配方奶粉, 麦片, 宠物食品, 鸡蛋粉), 检测限为 4.4 ng/mL。Indyk 等<sup>[7]</sup>证实了 SPR 生物传感器可以检测维生素 B<sub>8</sub>(生物素)和维生素 B<sub>9</sub>(叶酸)。他们应用商品化的 Biacore Q SPR 生物传感器竞争抑制检测。试验中他们在婴幼儿配方奶粉中检测到浓度低至 2 ng/mL 的生物素和叶酸。

由于 SPR 技术具有灵敏度高、免标记、实时、快速检测等突出优点, 因此 SPR 传感技术已被广泛应用于药物研究<sup>[8-9]</sup>、食品分析<sup>[10-11]</sup>、环境监测<sup>[12-13]</sup>等领域。20 世纪 90 年代瑞典的 Biacore 公司将 SPR

生物传感器技术引入兽药残留分析中, 目前已生产出多种检测试剂盒, 国内已有利用 SPR 技术进行牛奶中磺胺甲恶唑检测研究<sup>[14]</sup>的报道。生物传感器在食品相关领域, 包括农产品中的农药或除草剂残留, 动物产品, 如乳制品、肉类和鱼类中的食品防腐剂, 营养性添加剂等的检测已成为热门。对于有机污染物、农药残留、兽药残留、微生物及微生物代谢产物等小分子物质的检测, 常规情况下采用的分析方法有 HPLC-MS、HPLC、GC、GC-MS 等。这些方法缺点是成本高、费时费力、对环境有污染、前期准备十分繁琐, 无法成为一种高效的自动化常规分析方法。国内外已有多种关于采用 SPR 生物传感器检测不同样品的报道, 本研究利用 SPR 技术, 建立奶粉中生物素的检测方法。该技术的检测方法, 具有样品前处理相对简单、高特异性、灵敏度高、重复性好、分析快捷、定量准确等优势<sup>[15]</sup>, 适用于大规模的奶粉中生物素的含量检测。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料、试剂

奶粉(市售)、维生素 B<sub>12</sub> 传感芯片(GE 型号: CM5)、维生素 B<sub>12</sub> 结合蛋白(GE 批号: 10166935)、超纯水(密理博)、Pall 0.22 μm 滤膜、1 mL 一次性无菌注射器、离心管(1.5、2.0、15.0 mL)、10.0 mL 棕色容量瓶、96 孔板(圆底)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(天津市化学试剂三厂, 分析纯)、柠檬酸(国药集团化学试剂有限公司, 分析纯)、BSA(AMResco, 分析纯)、0.2% NaCN(浙江省疾控中心提供, 分析纯)、0.5% SDS(上海埃彼化学试剂有限公司, 分析纯)、0.2M NaOH(天津市恒兴化学试剂制造有限公司, 分析纯)。

配制试剂和标准溶液(避光操作)

#### (1) 配制磷酸-柠檬酸缓冲液

0.2 mol/L 磷酸溶液:称取 35.6 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 溶解于 1000 mL 去离子水。

0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液:称取 21.0g 柠檬酸, 溶解于 1000 mL 去离子水。

磷酸-柠檬酸缓冲液:将 450 mL 0.2 mol/L 磷酸溶液和 550 mL 0.1 mol/L 柠檬酸溶液混合, 调 pH 至 4.5。

#### (2) 校正缓冲液 calibrant buffer

取 0.5 gBSA, 溶于 50 mL 磷酸-柠檬酸缓冲液。搅拌 30 min, 经 0.22 μm 滤膜过滤。

### (3) 提取液

1 份 0.2% NaCN 溶液 40 倍稀释于磷酸-柠檬酸缓冲液中(最终浓度 0.005%)。体积根据具体用量计算(小心操作, NaCN 剧毒)。

### (4) 再生试剂

2 mL 0.5% SDS, 1.5 mL 0.2 mol/L NaOH 溶液, 0.5 mL 去离子水, 混合。

### (5) 标准溶液

IM I(2.4 μg/mL):100 μL VB<sub>12</sub>, 标准品至 10 mL 容量瓶, 校正液定容 10 mL。

IM II(24 ng/mL):100 μL(IM I)至 10 mL 容量瓶, 校正液定容 10 mL。

## 2.2 仪 器

天平(赛多利斯, BT 224S)、离心机(eppendorf, 5810R)、Biacore 3000 型表面等离子体共振仪(General Electric, GE)、高温灭菌锅(三洋, MLS-3750)、pH 计(梅特勒, SG2)

## 2.3 样品的前处理(避光)

精确称取 0.2 g 奶粉样品到 15 mL 离心管中, 加 9 mL 提取液, 振荡至完全溶解后于高温灭菌锅中 120 °C 25 min(使样品中蛋白质失活)。取出冷却至室温, 将沉淀物打匀, 用提取液将体积补到 10 mL, 再用移液枪吸 2 mL 样液至 2 mL 离心管中, 13000 r/min 离心 10 min, 用 1 mL 一次性无菌注射器吸取 1 mL 中间的溶液部分(小心避开表层的脂肪层和底部的沉淀)过 0.22 μm 滤膜, 至少收集 200 μL 的样品到 1.5 mL 离心管中。

## 2.4 标准曲线的构建

用去离子水将维生素 B<sub>12</sub> 标准样品母液(0.24 mg/mL)稀释为 0.08、0.8、1.6、2.4 ng/mL, 每个浓度重复检测两次。

## 2.5 优化芯片

将仪器中的维护芯片更换为 Sensor Chip Vitamin B<sub>12</sub>, 加入足够量的缓冲液(0.01 mol/L HEPES、0.15 mol/L NaCl、3 mmol/L EDTA、0.005% Surfactant p20)于瓶中并放置 Buffer 隔间, 运行 Prime(Buffer 大量冲洗检测通道)程序, 之后选择通道, 设定进样位置和流速 20 μL/min, 然后加入 200 μL 再生试剂于 1.5 mL 离心管中, 放入设定进样位置, 连续进行 3 次洗针。

## 2.6 回收率试验

从 10 个检测样品中采用简单随机抽样选取 3 个样品, 前处理同 2.3, 每个样品加标 II 0.8 ng/mL, 做回收率试验。

加标 I:取 IM II 2 mL+8 mL 提取液, 混匀(4.8 ng/mL)

加标 II:取加标 I 6 mL+30 mL 提取液, 混匀(0.8 ng/mL)

## 2.7 样品检测

2.7.1 点击 File→New Application Wizard, 选择右侧的 Use Template, 打开 VB<sub>12</sub> assay draft.blw(VB<sub>12</sub> 分析程序)。

2.7.2 点击 Edit, 打开编写好的程序。

2.7.3 双击第一条 Detection1, 弹出 Cycle Settings 对话框。在 Detection 中选择本次实验需要使用的通道(Fc1、Fc2、Fc3 或 Fc4), 所选的通道要和芯片优化中选择的一致。点击 Next。

2.7.4 在样品表格中输入本次实验的样品名称(在 Sample1-20 上修改), 每个样品只检测一次。如果样品需要重复检测, 请另外再取一个名字(如 Sample1-1, Sample1-2)。

2.7.5 按照 Rack Position 中所示意的样品位置 and 对应体积, 在 96 孔板和 EP 管中加入相对应的样品和试剂。(红色是指需要加入的样品和试剂位置, 蓝色是指放入空管子, 绿色是样品混合的位置。)标准溶液、结合蛋白和再升试剂均加在 EP 管中, 样品加在 96 孔板中。

2.7.6 VB<sub>12</sub> 结合蛋白(VBP)需要稀释, 取 2070 μL 蛋白稀释液至 230 μL VBP 原液。

2.7.7 加样过程中, 请避免引入气泡。如果有气泡产生, 请用枪头赶去或吸走。

2.7.8 加入体积请勿小于表中所给出的最小体积限定。加样完成后, 96 孔板加样的地方请用铝箔条封上, EP 管都用橙色橡皮盖盖上, 96 孔板混合溶液的孔(绿色标注)也需要封。将加好样的 96 孔板套上避光罩(黑色)。

2.7.9 将加好的样品放入样品架上, 关上柜门, 点击 Next。

2.7.10 将实验方法 Save as 成其他名字, 实验结果也保存成对应的名字。

2.7.11 按 Start 按钮, 开始检测实验。

3 结果与分析

3.1 再生条件的优化与芯片稳定性

在筛选芯片再生条件中, 我们分别对甘氨酸(pH 1.5, pH 2.0, pH 2.5 和 pH 3.0)、氢氧化钠(20、50、75 mmol/L)以及氯化钠(1、2 mol/L)等条件进行了测试。针对每个再生试剂, 又分别对流速(10、20、40  $\mu\text{L}/\text{min}$ )和再生时间(40、50、60 s)进行测试。最终确定 75 mmol/L NaOH, 0.25%SDS, 流速 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ , 进样 50 s 作为再生条件。

将钴胺素结合蛋白进样时间设为 480 s, 流速 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。再生条件为 75 mmol/L NaOH, 0.25%SDS, 流速 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ , 进样 50 s。依照进样—再生的顺序作为一个循环, 共进行 50 个循环进行芯片稳定性测试, 见图 1。

芯片测试反应过程见图 2。实验结果表明, 结合信号平均响应值为 1216 RU, 50 个循环的结合信号的相对标准偏差(RSD)为 2.2%, 每一次再生都可以将结合到芯片上的钴胺素结合蛋白完全洗脱下, 同时对蛋白的再次结合影响微乎其微。

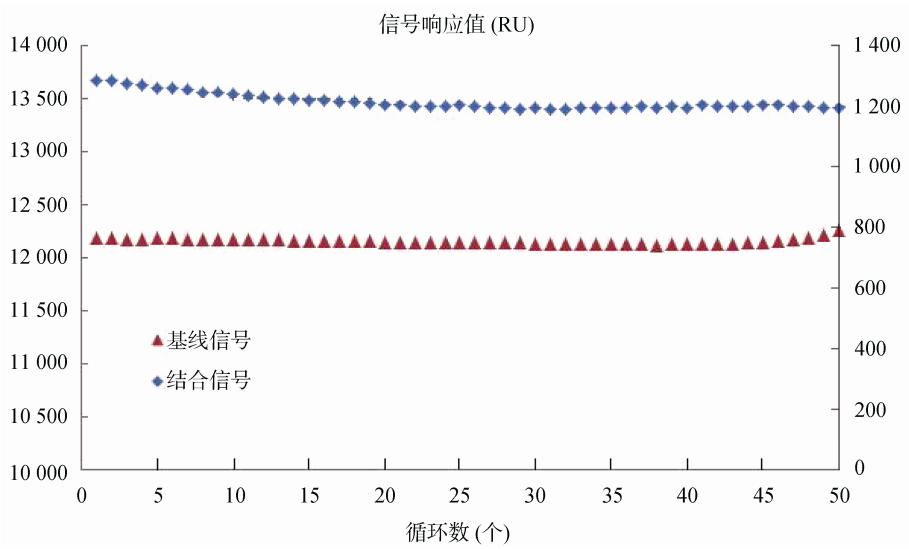


图 1 芯片稳定性测试  
Fig. 1 Stability test of chip  
(左侧 Y 轴: 基线信号, 右侧 Y 轴: 结合信号)

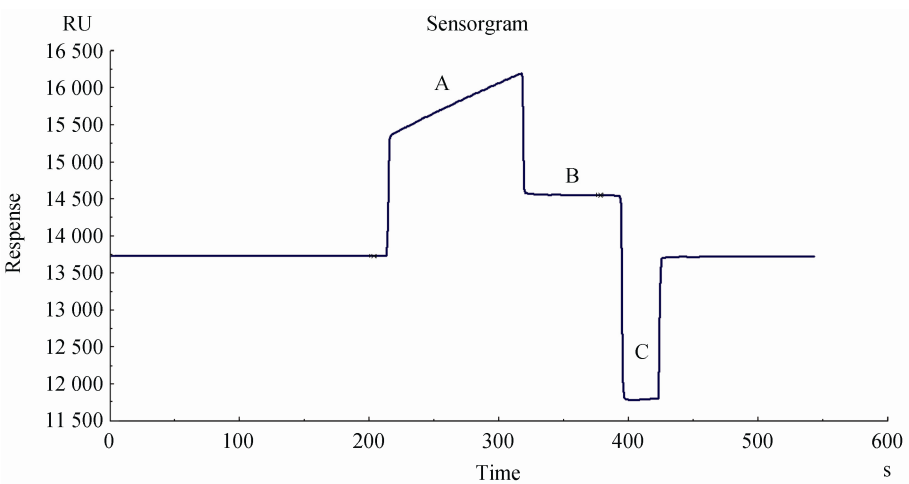


图 2 芯片测试反应过程  
Fig. 2 Chip test reaction process  
A: 样品进样; B: 样品解离; C: 再生

3.2 标准曲线的建立

根据在不同浓度下得到的结合信号, 采用 4 因子非线性回归进行拟合, 得到图 3 标准曲线。

应用 logistic 四因子回归分析建立标准曲线, 公式  $(Y=R_{hi}-(R_{hi}-R_{lo})/(1+(Conc./A_1)^{A_2}))$ , 标准曲线的  $R^2=0.99993$ , 表明回归方程拟合的非常好。

3.3 不同方法的样品测定结果的比较

目前, 根据国家标准 GB5413.14-2010 食品安全国家标准婴幼儿食品和乳品中维生素 B<sub>12</sub> 的测定<sup>[1]</sup>采用微生物法来测定婴幼儿食品和乳品中的维生素 B<sub>12</sub> 含量, 本研究采用商品化试剂盒(拜发公司)采用微生物微量滴定法来作方法比较。对市售 10 个奶粉分别做了生物传感器与微生物法检测维生素 B<sub>12</sub> 的试验,

结果见表 1。

从试验数据来看, 除第三组数据的 RSD > 10% 外, 其他数据相对标准偏差均在 10% 以内, 日内精密度试验所得结果也比较满意。由于生物传感器方法前处理使用氰化物释放出了样品中维生素 B<sub>12</sub> 的本底含量, 所测得的结果是维生素 B<sub>12</sub> 总量; 而微生物法前处理过程采用热释放方法并没有释放本底, 测定的是奶粉中维生素 B<sub>12</sub> 的添加量。因此在实验中对同一样品测得的数值生物传感器方法的数值要大于微生物法测点的数值, 但根据 GB10765-2010、GB10767-2010<sup>[1]</sup>所得的结果均判定为合格且是可以接受的。实验过程中维生素 B<sub>12</sub> 本身不稳定, 见光易分解, 要避免光处理样品; 在微生物法测定过程中易受到杂菌的污染, 所以实验处理样品过程中要注意无菌操作。

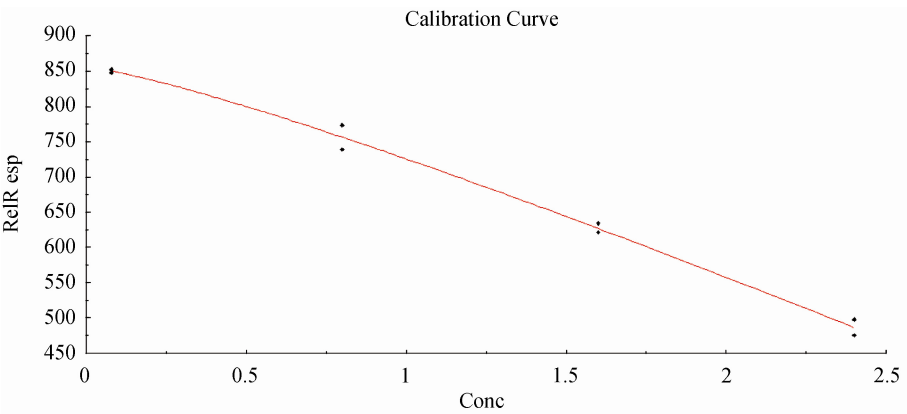


图 3 维生素 B<sub>12</sub> 标准曲线  
Fig. 3 Calibration curve of vitamin B<sub>12</sub>

表 1 两种方法检测维生素 B<sub>12</sub> 的数据结果(n=3)  
Table 1 Comparison of the data of vitamin B<sub>12</sub> assay in 2 different methods (n=3)

| 样品 | Biacore (μg/100 g) |             | 微生物法(μg/100 g) |             | 产品标识值<br>(μg/100 g) |
|----|--------------------|-------------|----------------|-------------|---------------------|
|    | 平均值(AVG)           | 相对标准偏差(RSD) | 平均值(AVG)       | 相对标准偏差(RSD) |                     |
| 1  | 3.72               | 6.08%       | 3.18           | 0.5%        | 2.0                 |
| 2  | 4.10               | 7.03%       | 2.91           | 4.7%        | 2.0                 |
| 3  | 4.24               | 11.89%      | 3.27           | 11.9%       | 2.0                 |
| 4  | 3.43               | 8.14%       | 1.98           | 9.0%        | 1.4                 |
| 5  | 2.95               | 8.70%       | 1.24           | 10.6%       | 1.2                 |
| 6  | 8.49               | 6.05%       | 5.55           | 9.3%        | 2.0                 |
| 7  | 8.38               | 5.05%       | 6.00           | 6.0%        | 2.0                 |
| 8  | 6.29               | 9.58%       | 4.35           | 11.6%       | 2.0                 |
| 9  | 6.23               | 3.87%       | 3.10           | 0.5%        | 2.0                 |
| 10 | 8.98               | 6.25%       | 5.60           | 6.0%        | 2.0                 |

### 3.4 回收率

从10个检测样品中随机采用简单随机方法选取3个样品,编号分别是3、6、8号,每个样品加标量0.8 ng/mL,并按照前处理步骤做回收率试验。通过所检测的数据,我们计算后得到3号样品回收率为99.3%、6号样品回收率为92.1%、8号样品回收率为104.1%,结果在预期范围之内,详见表3。

表2 日内精密度数据( $n=7$ )  
Table 2 Data of the intra-day precision ( $n=7$ )

| 日内精密度<br>( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) | 平均值  | 标准偏差<br>(SD) | 相对标准偏差<br>(RSD) |
|-----------------------------------------|------|--------------|-----------------|
| 样品9                                     | 6.08 | 0.03         | 0.54%           |

表3 样品回收率数据( $n=6$ )  
Table 3 Data of sample recovery rate( $n=6$ )

| 回收率 (%) | 回收率均值  | 标准偏差<br>(SD) | 相对标准偏差<br>(RSD) |
|---------|--------|--------------|-----------------|
| 样品3     | 99.3%  | 5.69%        | 6.19%           |
| 样品6     | 92.1%  | 7.75%        | 8.04%           |
| 样品8     | 104.1% | 3.01%        | 3.52%           |

### 3.5 检测限

取3份空白样品进行检测,以其信号平均值加上3倍的标准偏差值作为该方法的最低检测线。根据实验结果,最低检测线约为0.06 ng/mL。

以上试验可以得出:相对标准偏差小于10%,日内精密度试验RSD为0.54%,随机选取的3个样品回收率在92.1%~104.1%之间。样品只需简单的稀释、离心处理即可直接检测,可以实测奶粉样品中的生物素质量浓度范围为0.08~2.4 ng/mL。单个样品测量用时约18 min,可在6 h内完成20个样品的检测。相对传统的HPLC和GC检测技术,本方法样品前处理简单,同时也缩短了测量时间,是一种高效便捷的测量方法。

## 4 结 论

本实验基于Biacore 3000型表面等离子共振仪,采用了竞争抑制法作为检测方法,测定婴幼儿配方奶粉中的维生素 $B_{12}$ 含量。在奶粉样品中加入已知浓度的维生素 $B_{12}$ 结合蛋白(Vitamin  $B_{12}$  binding protein, VBBP),混合后的样品被流过预先包被过维生素 $B_{12}$

分子的传感芯片。样品中的维生素 $B_{12}$ 分子会和VBBP进行结合,而剩余的游离VBBP则结合到芯片表面上的维生素 $B_{12}$ 分子,因结合而产生的信号由仪器实时记录并输出。如果样品中的维生素 $B_{12}$ 分子浓度越高,则游离的VBBP越少,产生的信号也相对较低,反之亦然。

本研究通过对照奶粉中添加不同质量浓度的维生素 $B_{12}$ 得到标准曲线,该方法维生素 $B_{12}$ 检测限(LOD)=0.06 ng/mL,定量限(LOQ)=0.2 ng/mL。与其他检测方法相比,减少了奶粉样品中其他物质的影响,并且优化了再生条件,提高了芯片的稳定性,实验更加合理。从10个样品的检测结果来看,与微生物法检测结果基本一致,相对标准偏差小于10%,日内精密度试验RSD为0.54%,随机选取的3个样品回收率在92.1%~104.1%之间。样品只需简单的稀释、离心处理即可直接检测,可以实测奶粉样品中的维生素 $B_{12}$ 质量浓度范围为0.08~2.4 ng/mL。单个样品测量用时约18 min,可在6 h内完成20个样品的检测。相对传统的HPLC和GC检测技术,本方法样品前处理简单,同时也缩短了测量时间,是一种高效便捷的测量方法。但 $B_{12}$ 总含量检测在前处理中需要氰化物来释放本底,而氰化物为剧毒物质,既危险又难购买,其替代品尚未找到。

### 参考文献

- [1] GB 5413.14-2010 婴幼儿食品和乳品中维生素 $B_{12}$ 的测定[S]. GB 5413.14-2010 Determination of vitamin $B_{12}$  in foods for infants and young children, milk and milk products [S].
- [2] 刘惠, 张颖, 薛稚明, 等. 食品中维生素 $B_{12}$ 的测定方法研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(11): 2556-2557. Liu H, Zhang Y, Xue ZM, et al. Research progress of the determination methods of vitamin  $B_{12}$  in the food [J]. Chin J Health Lab Technol, 2013, 23(11): 2556-2557.
- [3] Homola J, Yee SS, Gauglitz G. Surface plasmon sensors: review [J]. Sensors and Actuators B, 1999, 54: 3-15.
- [4] Kretschmann E, Raether H. Radiative decay of non-radiative surface plasmons excited by light [J]. Z Naturforsch, 1968, 23A: 2135-2136.
- [5] Caelen I, Kalman A, Wahlstrom L. DNA aptamer-based surface plasmon resonance biosensor for the detection of retinol binding protein 4 for the early diagnosis of type 2 diabetes [J]. Anal Chem, 2004, 76: 137.
- [6] Haughey SA, O'Kane AA, Baxter GA, et al. Determination of pantothenic acid in foods by optical biosensor immunoassay [J].

- JAOAC Int, 2005, 88: 1008-1014.
- [7] Indyk HE, Evans EA, Bostrom Caselunghe MC, *et al.* Determination of biotin and folate in infant formula and milk by optical biosensor-based immunoassay [J]. J AOAC Int, 2000, 83(5): 1141-1148.
- [8] Thillaivayagalingam P, Newcombe AR, Donovan O, *et al.* Detection and quantification of affinity ligand leaching and specific antibody fragment concentration within chromatographic fractions using surface plasmon resonance [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2007, 48(2): 179-188.
- [9] Li J, Wu H, Hong J, *et al.* Odorranalectin is a small peptide lection with potential for drug delivery and targeting [J]. PLoS One, 2008, 3(6): 2381.
- [10] Rebe RS, Bremer MG, Giesbers M, *et al.* Development of a biosensor microarray towards food screening using imaging surface plasmon resonance [J]. Biosens Bioelectron, 2008, 24(4): 522-577.
- [11] Labib M, Hedstrom M, Amin M, *et al.* A capacitive immunosensor for detection of cholera toxin [J]. Anal Chim Acta, 2009, 634(2): 255-261.
- [12] Zhang WW, Chen YC, Luo ZF, *et al.* Analysis of 17 $\beta$ -estradiol from sewage in coastal marine environment by surface plasmon resonance technique [J]. Chem Res Chin Univ, 2007, 23(4): 404-407.
- [13] Khalavka Y, Becker J, Sonnichsen C. Synthesis of rod-shaped gold nanorattles with improved plasmon sensitivity and catalytic activity [J]. J American Chem Soc, 2009, 131(5): 1871-1875.
- [14] 周宏敏, 欧惠超. 利用表面等离子共振技术快速检测牛奶中的甲恶唑[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 168-171.  
Zhou HM, Ou HC. Using surface Plasmon resonance technology for rapid detection of sulfa methoxazole in milk [J]. Food Sci, 2010, 31(6): 168-171.
- [15] 郭文林. 利用表面等离子谐振免疫生物传感器检测动物组织中的兽药残留[J]. 中国兽药杂志, 2004, 38(11): 31-36.  
Guo WL. Veterinary Inspection of animal tissue surface plasmon resonance biosensor residues utilization [J]. China J Vet Med, 2004, 38(11): 31-36.

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



孙明君, 助理工程师, 主要研究方向  
为进出口食品农产品质量与安全检验。  
E-mail: sun\_mingjun@hotmail.com